

## Deterjen Serbuk - Bagian 2: Cara uji toksisitas akut surfaktan terhadap ikan



© BSN 2011

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang menyalin atau menggandakan sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun dan dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN  
Gd. Mangala Wanabakti  
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.  
Telp. +6221-5747043  
Fax. +6221-5747045  
Email: [dokinfo@bsn.go.id](mailto:dokinfo@bsn.go.id)  
[www.bsn.go.id](http://www.bsn.go.id)

Diterbitkan di Jakarta



## Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata .....	ii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Acuan normatif.....	1
3 Istilah dan definisi .....	1
4 Cara uji .....	2
5 Perhitungan dan pelaporan .....	5
6 Validitas hasil uji .....	6
7 Jaminan mutu .....	6
Lampiran A (informatif) Cara perhitungan nilai LC50 dengan metoda analisa <i>probit</i> .....	7
Lampiran B (informatif) Karakteristik air pengencer yang cocok .....	8
Lampiran C (informatif) Contoh penentuan nilai LC50 (menggunakan kertas Log-Probit).....	9
Lampiran D (informatif) Contoh penulisan hasil uji toksisitas akut .....	10
Lampiran E (informatif) Lembar modifikasi .....	12
Bibliografi .....	13



## Prakata

SNI 7554.2:2011 dengan judul *Deterjen Serbuk - Bagian 2: Cara uji toksisitas akut surfaktan terhadap ikan* memberikan ketentuan toksisitas akut surfaktan terhadap ikan. SNI ini disusun melalui adopsi dengan metode terjemahan dan tingkat keselarasannya modifikasi dari dokumen *OECD Guideline for Testing of Chemicals 203 – Fish, Acute Toxicity Test, 1992*. Adapun daftar lengkap hasil modifikasi, bersama dengan penjelasannya, diberikan dalam Lampiran E.

SNI ini disusun oleh Sub Panitia Teknis 13-03-S1, *Kualitas Air* dari Panitia Teknis 13-03, *Kualitas Lingkungan dan Manajemen Lingkungan*, dan telah disepakati dan disetujui dalam rapat konsensus pada tanggal 30 April 2007 di Serpong. Selain itu SNI ini telah dilakukan Jajak Pendapat pada tanggal 4 Mei 2009 sampai dengan 4 Juli 2009 dengan hasil akhir disetujui menjadi SNI.





## Deterjen Serbuk - Bagian 2: Cara uji toksisitas akut surfaktan terhadap ikan

### 1 Ruang lingkup

Standar ini dapat digunakan untuk uji toksisitas akut surfaktan terhadap ikan. Bahan uji memiliki sifat mudah larut dalam air dan tidak mudah menguap. Kisaran konsentrasi surfaktan maksimal 100 mg/L.

### 2 Acuan normatif

*OECD Guideline for testing of chemicals 203 - 1992: Fish, Acute toxicity test.*

### 3 Istilah dan definisi

#### 3.1

##### **surfaktan**

bahan kimia bersifat aktif permukaan yang merupakan komponen utama dalam produk deterjen

#### 3.2

##### **Lethal Concentration 50 (LC50)**

konsentrasi bahan uji yang dapat menyebabkan kematian sebesar 50 % dari kelompok hewan uji dalam periode waktu tertentu

#### 3.3

##### **pengujian secara aliran-kontinyu (*flow-through test*)**

sistem pengujian yang menggunakan larutan uji yang dialirkan secara terus-menerus

#### 3.4

##### **pengujian semi-statis**

sistem pengujian yang menggunakan larutan uji yang diperbaharui secara berkala setiap satuan waktu tertentu

#### 3.5

##### **pengujian statis**

sistem pengujian yang menggunakan larutan uji yang tidak diperbaharui selama satu periode pengujian

#### 3.6

##### **air bebas mineral**

air yang diperoleh dengan cara penyulingan ataupun proses demineralisasi sehingga diperoleh air dengan konduktivitas lebih kecil dari 2  $\mu\text{S/cm}$ .



## **4 Cara uji**

### **4.1 Prinsip**

Perbedaan konsentrasi bahan uji menyebabkan tingkat toksisitas yang berbeda terhadap ikan, yang ditunjukkan dengan kematian (mortalitas). Ikan dipaparkan dalam larutan bahan uji selama periode waktu 96 jam. Pengamatan kematian dilakukan pada awal pengujian hingga jam ke 6 dan setelah terpapar 24, 48, 72 dan 96 jam. Nilai LC50 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam, dihitung berdasarkan data mortalitas ikan antara 0% - 100%. Pengujian dapat dilakukan dengan cara statis, semi statis atau aliran kontinu tergantung pada karakteristik bahan uji.

### **4.2 Bahan**

#### **4.2.1 Hewan uji**

Hewan uji yang digunakan ialah satu atau lebih spesies ikan sehat yang dipilih berdasarkan urutan kriteria yaitu kepekaan, ketersediaan, kemudahan dalam pemeliharaan dan diketahui asal-usulnya. Ikan diperoleh dari satu sumber yang sama dengan umur kurang lebih 2 minggu dengan ukuran yang terpanjang tidak lebih dari satu setengah kali yang terpendek.

**CATATAN** Salah satu jenis ikan yang dapat digunakan adalah *Cyprinus carpio* (ikan mas).

#### **4.2.2 Air**

Terdapat 2 jenis air yang dapat digunakan sebagai air pengencer yaitu:

- a. Air alami atau air hasil olahan yang memiliki kualitas yang stabil dengan kesadahan total 60 - 120 mg CaCO<sub>3</sub> per liter dan pH 6,0 - 8,5.

**CATATAN** Bila menggunakan air olahan harus dibiarkan minimal 24 jam untuk mengurangi kandungan klorin.

- b. Air diperkaya mineral.

Buat air diperkaya mineral dalam gelas piala dengan cara sebagai berikut:

##### **(a) Larutan A**

Larutkan 11,76 g Kalsium klorida dihidrat, CaCl<sub>2</sub>.2 H<sub>2</sub>O dalam 1 liter air bebas mineral.

##### **(b) Larutan B**

Larutkan 4,93 g Magnesium sulfat heptahidrat, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, dalam 1 liter air bebas mineral.

##### **(c) Larutan C**

Larutkan 2,59 g Natrium hidrogen karbonat, NaHCO<sub>3</sub> dalam 1 liter air bebas mineral.

##### **(d) Larutan D**

Larutkan 0,23 g Kalium klorida, KCl, dalam 1 liter air bebas mineral.

1. Masukkan 800 mL air bebas mineral dalam gelas piala ukuran 2000 mL,
2. Tambahkan larutan A; B; C dan D masing-masing 25 mL,
3. Kemudian tambah air bebas mineral hingga volume 1000 mL dan aduk sampai homogen,
4. Ukur pH larutan, dan atur pada pH 7,8s ± 0,2,



**CATATAN 1** Jumlah ion-ion kalsium dan magnesium dalam larutan adalah 25 mmol/L. Perbandingan ion-ion Ca : Mg adalah 4:1 dan ion-ion Na : K adalah 10:1.

**CATATAN 2** Pengaturan pH dilakukan dengan larutan encer NaOH atau HCl.

**CATATAN 3** Lakukan aerasi hingga kandungan oksigen terlarut sama dengan nilai kejenuhan udara dalam air. Larutan ini dapat disimpan sekitar 2 hari tanpa aerasi sebelum digunakan.

#### 4.2.3 Larutan induk bahan uji

Larutan induk bahan uji dibuat dengan melarutkan bahahn uji dengan air bebas mineral. Konsentrasi larutan induk bahan uji, dibuat atas dasar kisaran konsentrasi bahan uji yang akan digunakan dalam pengujian. Pembuatan larutan induk bahan uji dilakukan tanpa pengaturan pH. Jika terjadi perubahan pH yang disebabkan oleh pengenceran, lakukan penyesuaian pH dengan larutan encer HCl atau NaOH.

#### 4.2.4 Pakan ikan

Berupa pelet yang memenuhi syarat untuk kehidupan ikan.

### 4.3 Peralatan

- tangki uji toksisitas ikan dilengkapi aerator;
- alat ukur oksigen terlarut (DO-meter);
- peralatan untuk penentuan kesadahan air;
- alat pengatur suhu air;
- pH meter; dan
- alat ukur konduktivitas air;

### 4.4 Prosedur uji

#### 4.4.1 Persiapan

##### 4.4.1.1 Pemeliharaan ikan

Ikan dipelihara dalam air yang memenuhi syarat (3.3.2) sekurang-kurangnya 12 hari pada kondisi cahaya 12 - 16 jam/hari, oksigen terlarut minimal 80% dari nilai kejenuhan udara dalam air dan suhu disesuaikan dengan sifat spesies ikan yang dipilih dan diberi pakan 3 kali per minggu.

**CATATAN** Jumlah maksimum ikan dalam air adalah satu gram per liter.

Apabila terjadi kematian ikan dalam 7 hari berturut-turut setelah periode pemeliharaan 48 jam, maka lakukan hal sebagai berikut:

- Kematian ikan lebih besar dari 10% dari jumlah populasi, maka semua ikan tidak memenuhi persyaratan untuk digunakan sebagai hewan uji.
- Kematian ikan antara 5% - 10% dari jumlah populasi, pemeliharaan dilanjutkan hingga tujuh hari berikutnya.
- Kematian ikan lebih kecil dari 5% dari jumlah populasi, semua ikan memenuhi syarat untuk pengujian.



#### 4.4.1.2 Aklimatisasi ikan

Ikan terpilih, diseleksi yang memiliki ukuran panjang sesuai butir 3.3.1, kemudian diaklimatisasi dalam air yang sama dengan air yang akan digunakan dalam pengujian. Aklimasi dilakukan sekurang-kurangnya 7 hari pada kondisi yang sama dengan kondisi pada pemeliharaan ikan (3.5.1.1) dan diberi pakan secukupnya, kecuali 24 jam sebelum pengujian.

#### 4.4.2 Pengerjaan pengujian

Pengujian dilakukan dalam 2 tahap yaitu uji pendahuluan dan uji lanjut. Uji pendahuluan untuk menentukan kisaran konsentrasi bahan uji yang menyebabkan mortalitas ikan 100% dan konsentrasi yang tidak memberikan efek mortalitas. Uji lanjut untuk menentukan nilai LC50.

##### 4.4.2.1 Uji pendahuluan

Tentukan minimal 5 variasi konsentrasi bahan uji menurut deret geometrik. Konsentrasi tertinggi diperkirakan dapat menyebabkan mortalitas ikan 100% dan konsentrasi terendah diperkirakan tidak memberikan efek yang nyata.

**CATATAN** Penentuan nilai konsentrasi tertinggi berdasarkan nilai LC50 surfaktan yang tersedia (MSDS)

##### 4.4.2.2 Uji lanjut

Tentukan minimal 5 variasi konsentrasi bahan uji menurut deret geometrik dengan faktor tidak melebihi 2,2 pada kisaran yang dapat menyebabkan mortalitas antara 0% - 100%. Kisaran tersebut diperoleh dari hasil uji pendahuluan.

Pelaksanaan uji pendahuluan dan uji lanjut adalah sama, hanya berbeda dalam variasi konsentrasi bahan uji. Tahap-tahap pengerjaan pengujian adalah sebagai berikut :

- Siapkan sejumlah bejana pengujian untuk masing-masing perlakuan konsentrasi bahan uji dan kontrol, dengan tiga replikasi terhadap masing-masing perlakuan;
- Gunakan minimal 10 ekor ikan pada masing-masing konsentrasi bahan uji dan kontrol;
- Jumlah total air pengencer (3.3.2) yang digunakan dalam masing-masing perlakuan uji adalah maksimum satu gram ikan per liter air pengencer untuk sistem air statis dan semi statis sedangkan untuk sistem aliran air kontinyu memerlukan air lebih banyak;
- Kondisi pengujian diatur pada suhu disesuaikan dengan sifat spesies ikan yang dipilih, dengan periode cahaya harian normal dan oksigen terlarut minimal 60% dari nilai kejenuhan udara dalam air. Aerasi dapat digunakan selama tidak menyebabkan kehilangan bahan uji yang signifikan;
- Pengujian dilakukan selama 96 jam, dengan tidak melakukan pemberian pakan ikan selama periode pengujian;
- Amati kematian ikan setelah terpapar 3 jam dan 6 jam, kemudian setiap 24 jam sekali dalam periode pengujian 96 jam. Pindahkan ikan yang mati dan catat jumlah kematian;
- Amati dan catat, bila tampak adanya ketidaknormalan (hilangnya keseimbangan, perilaku saat berenang, kecepatan respirasi, pigmentasi);
- Ukur pH, suhu, oksigen terlarut masing-masing perlakuan setiap hari;
- Tentukan kebutuhan oksigen kimiawi (*Chemical Oxygen Demand/COD*) pada awal dan akhir pengujian.



**CATATAN 1** Ikan dianggap mati jika tidak tampak adanya gerakan (misalnya pergerakan insang) dan tidak bereaksi jika bagian ekor (*caudal peduncle*) disentuh.

**CATATAN 2** Bila terjadi kematian ikan setelah terpapar 3 jam dan atau 6 jam sebanyak 50%, pengujian harus diulang dengan rentang konsentrasi yang lebih rendah.

## 5 Perhitungan dan pelaporan

### 5.1 Perhitungan

- Masukkan data pengamatan jumlah kematian pada 24, 48, 72 dan 96 jam dari setiap perlakuan dan replikasinya dalam bentuk tabel.
- Uji homogenitas dan normalitas data pengamatan kematian pada masing-masing waktu pengamatan dengan batas kepercayaan ( $p = 0,95$ ).
- Hitung nilai LC50, dengan menggunakan statistik analisis probit (Lampiran C) atau dengan menggunakan *software* program analisis *probit*, *polo probit* atau *micro/macro probit*.

### 5.2 Laporan hasil uji

Laporan hasil uji meliputi beberapa informasi berikut:

- Senyawa yang diuji  
Bentuk fisik.
- Ikan yang diuji
  - Nama spesies dan ukuran.
  - Sumber perolehan ikan.
  - Perlakuan dalam pemeliharaan.
- Kondisi pengujian
  - Sistem pengujian (statis, semi-statis, aliran-kontinyu).
  - Kualitas air pengencer (pH, oksigen terlarut, kesadahan, suhu, DHL).
  - Kondisi air pengujian pada masing-masing perlakuan (pH, oksigen terlarut, kesadahan, suhu, DHL) pada setiap pengamatan.
  - Metode persiapan larutan baku bahan uji dan konsentrasi perlakuan pengujian.
  - Variasi konsentrasi yang digunakan.
  - Jumlah ikan per perlakuan larutan uji.
- Hasil
  - Konsentrasi tertinggi yang tidak menyebabkan kematian selama periode waktu pengujian (Lampiran D.II.2).
  - Konsentrasi terendah yang menyebabkan kematian 100% selama periode waktu pengujian (Lampiran D.II.2)
  - Data mortalitas pada masing-masing konsentrasi larutan uji, pada setiap waktu pengamatan (Lampiran D.II.2)
  - Uji homogenitas dan normalitas data pengamatan kematian pada masing-masing waktu pengamatan dengan batas kepercayaan ( $p = 0,95$ ).



## **SNI 7554.2:2011**

- 5) Nilai LC50, dengan batas kepercayaan 95%, pada masing-masing waktu pengamatan.
- 6) Grafik kurva mortalitas - konsentrasi pada akhir pengujian.
- 7) Prosedur statistik yang digunakan untuk menentukan nilai LC50.
- 8) Jumlah kematian pada kontrol.
- 9) Respon yang tidak normal dari ikan.

### **6 Validitas hasil uji**

Hasil uji dinyatakan valid bila memenuhi beberapa hal sebagai berikut:

- a) Kematian pada kontrol tidak boleh melebihi 10 persen pada akhir pengujian.
- b) Konsentrasi bahan uji yang tersisa pada akhir pengujian minimal sebesar 80 persen (Berdasarkan data COD atau TOC). Jika perbedaan awal dan akhir pengujian lebih besar dari 20 persen, konsentrasi yang digunakan dalam perhitungan harus berdasarkan konsentrasi akhir
- c) Konsentrasi oksigen terlarut sekurang-kurangnya 60 persen dari nilai kejenuhan udara dalam air selama periode pengujian.

### **7 Jaminan mutu**

- a) Gunakan bahan kimia berkualitas p.a;
- b) Gunakan alat ukur dan alat gelas yang terkalibrasi atau terverifikasi;
- c) Gunakan air bebas mineral untuk pembuatan semua pereaksi;
- d) Dikerjakan oleh analis yang kompeten.



**Lampiran A**  
(informatif)  
**Cara perhitungan nilai LC50 dengan metoda analisa probit**

**Tabel A.1 - Hasil pengamatan jumlah kematian ikan**

Konsentrasi ( mg/ L )	Jumlah ikan yang diuji per perlakuan ( ekor )	Jumlah immobilisasi		Log konsentrasi ( X )	Probit p ( Y )
		ekor	% mati (p)		

**Perhitungan garis probit :**  $y = a + bX$

$$b = \frac{\sum xy - \frac{1}{k} \sum x \sum y}{\sum x^2 - \frac{1}{k} (\sum x)^2} \quad \text{dan} \quad a = \frac{1}{k} (\sum y - b \sum x)$$

**Keterangan :**

k adalah jumlah perlakuan

**Perhitungan LC50 :**

$$a) \quad m = \frac{5 - a}{b}$$

$$b) \quad Sm = \frac{1}{b} \sqrt{\frac{1}{\sum nw}} + \frac{(m - \bar{x})^2}{\sum nw(\bar{x} - X)^2}$$

$$c) \quad \bar{x} = \frac{\sum nwx}{\sum nw}$$

$$d) \quad \sum nw(x - \bar{x})^2 = \sum nwx^2 - \frac{(\sum nwx)^2}{\sum nw}$$

**Keterangan:**

n adalah jumlah hewan uji;

w adalah *weighting coefficients* untuk probit y.

$LC50 = \text{antilog } m \pm Sm$
-----------------------------------



**Lampiran B**  
(informatif)  
**Karakteristik air pengencer yang cocok**

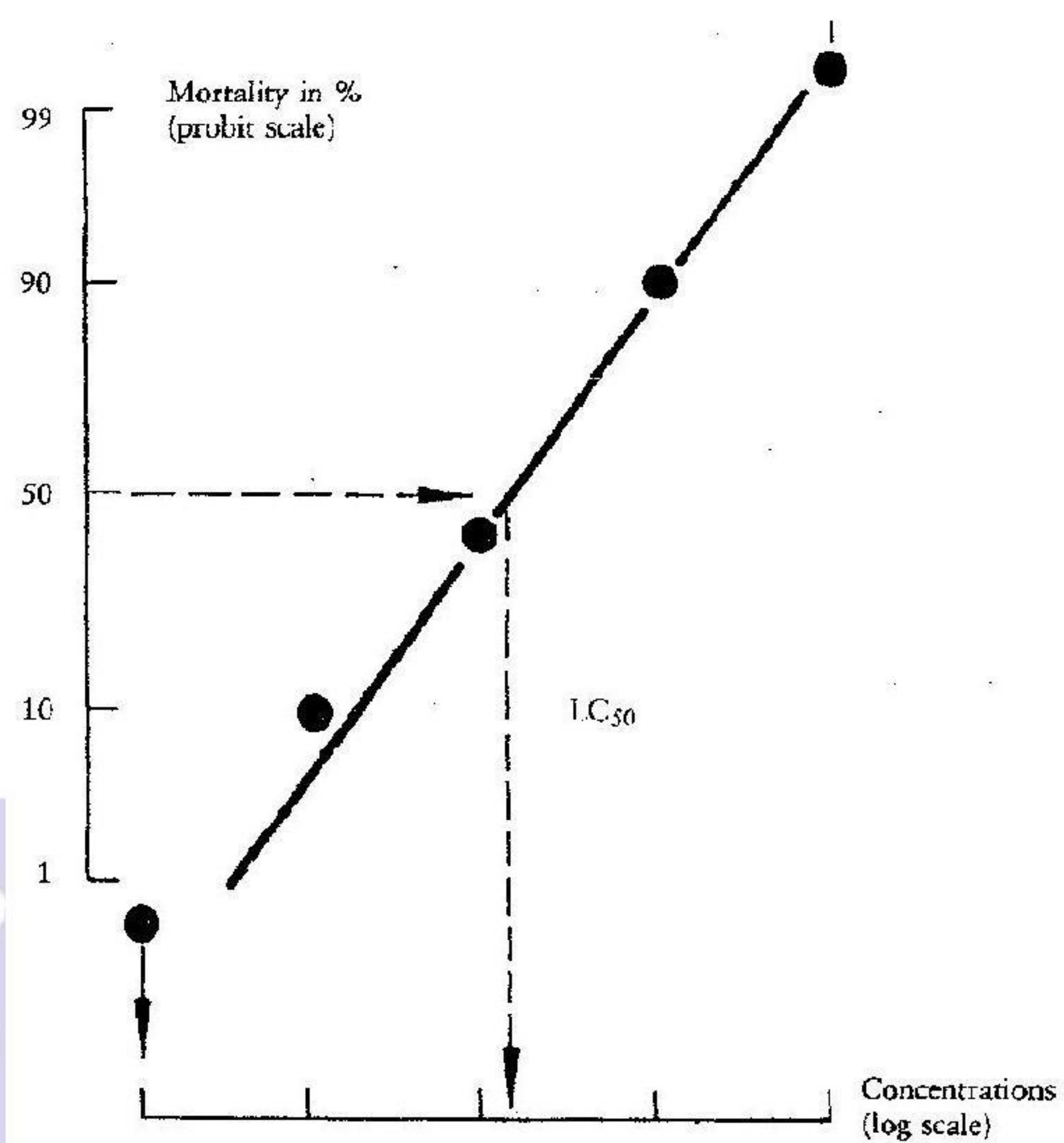
Tabel B.1 - Karakteristik air pengencer yang cocok

Parameter	Satuan	Konsentrasi
Bahan partikulat	mg/L	< 20
Total Organik karbon (TOC)	mg/L	< 2
Ammonia bebas	µg/L	< 1
Klorin sisa	µg/L	<10
Total organofosfat pestisida	ng/L	< 50
Total organoklorin + <i>Polichlorinated biphenyls</i> (PCBs)	ng/L	<50
Total Organik klorin	ng/L	<25
OECD TG 212 (1998), <i>Fish Short Term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry stages</i> .		





**Lampiran C**  
(informatif)  
**Contoh penentuan nilai LC50 (menggunakan kertas Log-Probit)**



**Gambar C.1 - Contoh penentuan nilai LC50 (menggunakan kertas Log-Probit)**



**Lampiran D**  
(informatif)  
**Contoh penulisan hasil uji toksisitas akut**

**D.1 Informasi umum**

<b>D.1.1 Data bahan uji</b>
Sifat fisik : Sifat Kimia :
<b>D.1.2 Data hewan uji</b>
Nama spesies : Ukuran rata-rata : Sumber pengambilan : Perlakuan dalam pemeliharaan
<b>D.1.3 Metoda pengujian</b>
Standar acuan : Sistem pengujian : statis/ semi statis / kontinyu Sistem semi statis : frekwensi penggantian air : Variasi konsentrasi bahan uji : Jumlah replikasi per perlakuan konsentrasi : Jumlah ikan per perlakuan : Metoda statistik untuk perhitungan LC50 :

**D.2 Data pengujian**

<b>D.2.1 Data kualitas air pengencer</b>
Sumber pengambilan : Sifat fisik – kimia 1. DHL : 2. TOC atau COD : 3. pH : 4. Kesadahan : 5. Klorin :



**D.2.2 Data pengamatan mortalitas ikan**

Konsentrasi bahan uji yang tidak menyebabkan kematian :

Konsentrasi bahan uji yang menyebabkan 100% kematian :

Kumulatif kematian pada masing-masing perioda pengamatan, adalah sebagai berikut :

Konsentrasi (mg/L)	Jumlah hewan uji per bejana	Jumlah mortalitas (ekor)											
		24 jam			48 jam			72 jam			96 jam		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
kontrol													
T-1													
T-2													
T-3													
T-4													
T-5													

**D.3 Data pengukuran kondisi pengujian**

Konsentrasi (mg/L)	Jumlah hewan uji per bejana	Nilai rata-rata dari parameter											
		24 jam			48 jam			72 jam			96 jam		
		pH	DO (mg/L)	T (°C)	pH	DO (mg/L)	T (°C)	pH	DO (mg/L)	T (°C)	pH	DO (mg/L)	T (°C)
kontrol													
T-1													
T-2													
T-3													
T-4													
T-5													

DO : dilaporkan dalam persen nilai jenuh

**D.4 Hasil perhitungan LC 50**

Lama paparan	LC50 (nilai dan kisarannya)
24 jam	
48 jam	
72 jam	
96 jam	



**Lampiran E**  
(informatif)  
**Lembar modifikasi**

Tabel E.1 - Lembar modifikasi

No	Pasal asli/rujukan	Uraian	Pasal modifikasi	Alasan
1		Jumlah hewan uji ikan 7 ekor	Jumlah hewan uji ikan 10 ekor	Mengacu pada persyaratan statistik, jumlah replikasi adalah minimal 10 ekor

Sumber: *OECD Guideline for Testing of Chemical 203 – Fish, Acute Toxicity Test*, 1992





## Bibliografi

Pedoman KAN 800-2004, *Pedoman umum akreditasi dan sertifikasi ecolabel*.

SNI 19-7188.2.1-2007, *Kriteria ecolabel – Bagian 2: Kategori produk deterjen – Seksi 1: Serbuk deterjen pencuci sintetis rumah tangga*.















**BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN**  
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3,4,7,10  
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270  
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : [bsn@bsn.go.id](mailto:bsn@bsn.go.id)